

Cah. ORSTOM, Sér. Biol., n° 12 - juin 1970.

**LA FUSARIOSE DE LA TOMATE
INFLUENCE DU CHLORURE DE SODIUM
SUR LA SENSIBILITÉ DES PLANTULES
A L'INFECTION PAR LE
FUSARIUM OXYSPORUM F. *LYCOPERSICI* (SACC.)
SNYD. ET HANS.**

PAR

C. DECLERT*

RÉSUMÉ

Les plantules de Tomate résistent mieux aux infections artificielles par le Fusarium oxysporum f. lycopersici (Sacc.) Snyder et Hans. lorsqu'elles sont cultivées sur milieu de Knop additionné de chlorure de sodium à la concentration de 5‰ que lorsqu'elles sont cultivées sur milieu de Knop. L'énergie germinative des graines se trouve amoindrie, de même que l'intensité transpiratoire et la croissance des tiges des plantules. La croissance globale n'est apparemment pas modifiée.

SUMMARY

Tomato seedlings grown in test tubes under defined environmental conditions succumbed later after artificial inoculation by Fusarium oxysporum f. lycopersici (Sacc.) Snyder & Hans., when Knop inorganic salt nutrient-agar is supplemented with sodium chloride (0,5%). Germinative speed is retarded by sodium salt and water lost by transpiration is also reduced. Hypocotyl length of seedlings is significantly shorter but dry weight is unchanged.

L'eau utilisée pour l'irrigation des cultures en Tunisie est plus ou moins salée : la charge atteint couramment 1 à 2 g et dépasse parfois 3 g par litre. Le sel le plus fréquent et le plus abondant est le chlorure de sodium.

L'extension des périmètres irrigués pose entre autres problèmes (VAN HOORN, 1968) celui de connaître la répercussion de la salinité du sol sur la sensibilité des plantes

* Maître de Recherches O.R.S.T.O.M. Laboratoire de Cryptogamie de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie-Ariana.

aux maladies infectieuses d'origine tellurique. La fusariose, de loin l'affection la plus sévère pour les cultures de Tomate d'été (DAVET, 1967), a été étudiée à cet égard. Au cours d'essais préliminaires, DAVET (1966) a montré que la compétitivité du *Fusarium* vis-à-vis des autres champignons du sol était renforcée. L'application d'une nouvelle technique d'infection artificielle de plantules de Tomate a permis d'aborder directement la question. Certaines particularités des cultures ont été prises en considération, susceptibles d'étayer les interprétations du phénomène principal.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

La sensibilité à l'infection par le *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder et Hans. est évaluée d'après le résultat de la contamination de plantules de Tomate cultivées stérilement *in vitro*.

Cette culture est réalisée couramment en tubes pyrex 18 × 180 mm, en utilisant comme milieu nutritif la formule de Knop gélosée (les oligo-éléments ne se sont pas trouvés disponibles sur place à l'époque des expérimentations et, en conséquence, ont été omis), additionnée ou non de chlorure de sodium à différentes concentrations. Une fois remplis de milieu, à raison de 7 à 8 ml et bouchés de coton cardé, les tubes sont stérilisés à l'autoclave à 1,5 kg/cm² de pression pendant 30 minutes.

Les graines de Tomate subissent une désinfection par trempage dans l'eau de javel (solution du commerce) pendant 10 minutes suivi d'un rinçage à l'eau stérile. Le délai moyen pour obtenir leur germination est de 4 à 5 jours. Les tubes de culture sont soumis à un éclairage artificiel de 4 000 lux environ, avec un photopériodisme continu de 12 heures. La température est maintenue entre 24 et 30 °C. Agées de deux semaines, les plantules ont atteint une taille de 8 à 10 cm, leurs feuilles cotylédonaire sont bien épanouies et la troisième feuille commence son développement. La contamination est pratiquée à ce stade.

Le *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, utilisé pour les contaminations a été isolé en 1967 de tige de Tomate malade provenant du Sahel. Cet isolat appartient à la race 2. Le champignon est cultivé en boîtes de Pétri pendant 10 à 12 jours à 28 °C sur un milieu synthétique dont la composition est la suivante :

Glucose	20 g
Asparagine	1,5 g
PO ₄ HK ₂	500 mg
SO ₄ Mg, 7 H ₂ O	500 mg
Extrait de levure	1 g
Gélose	20 g
Eau	1 000 ml

Les thalles obtenus ont un aspect gazonnant, rose carmin, avec un revers vivement coloré. Des rondelles de 0,5 cm de diamètre y sont découpées à l'aide d'un emporte-pièce stérile, puis transportées dans des erlenmeyers remplis d'une solution aqueuse stérile de 5 % de saccharose et de 0,1 % d'asparagine, à raison de 25 à 30 pour 50 ml de solution. Les fioles sont agitées à la main pour mettre en suspension les conidies (microconidies principalement).

L'apport de 2 à 3 gouttes de la suspension inoculum dans les tubes de culture de Tomate réalise la contamination. Le champignon recouvre la surface du culot en trois jours d'un léger feutrage rose saumon.

Les premiers symptômes visibles sont l'enroulement, puis le flétrissement du feuillage. Cette fanaison peut régresser, mais le plus souvent elle se généralise à la tige, qui apparaît d'abord marquée de constrictions transversales, puis de rides longitudinales. Il est également fréquent d'observer des nécroses brunes, allongées, sur les tiges ou au niveau du collet. La plantule atteinte ne tarde pas à se dessécher complètement, prenant une teinte brun-grisâtre.

Sur chaque tube, deux dates sont inscrites :

- celle de l'apparition du premier symptôme de maladie,
- celle de la dessiccation (mort) de la plantule.

Environ 20 à 25 jours après la contamination, la majorité des plantules ont succombé et il est rare d'observer de nouveaux cas de maladie parmi celles qui subsistent. Grâce aux dates inscrites sur les tubes, les délais nécessaires pour l'obtention de symptômes de maladie et de mort sont calculés pour chaque plantule. Les résultats sont regroupés selon les traitements (concentration en chlorure de sodium, présence ou absence de ce sel à un niveau donné) et soumis à l'analyse statistique.

Certains aspects de la physiologie des plantules ont été confrontés pour les cultures témoins et les cultures sur milieu salé : germination des graines, transpiration et croissance des plantules.

Pour la germination, deux notions ont été distinguées : la capacité de germination, qui est le pourcentage de graines susceptibles de germer dans les conditions de l'expérience et, d'autre part, la vitesse de germination, à savoir le taux de germination à un moment donné (COME, 1968).

La variation en 24 heures du poids des tubes de culture débouchés représente essentiellement l'intensité journalière de transpiration, déduction faite de l'évaporation du milieu de culture, facile à apprécier par la pesée de témoins (tubes remplis du même milieu de culture, mais non ensemencés).

La croissance est évaluée, soit pour certains organes, soit pour la totalité des plantules. L'accroissement en longueur de la tige a été mesuré conventionnellement par la distance du premier nœud à la surface du culot gélosé. La pesée des plantules à l'état frais ou à l'état sec (obtenu par un séjour des échantillons pendant 20 heures à 95 °C) permet de connaître la croissance globale.

RÉSULTATS

Un premier essai d'infection artificielle a porté sur des plantules de variété Roma cultivées sur les milieux suivants : Knop, Knop + NaCl 1 ‰, Knop + NaCl 2,5 ‰, Knop + NaCl 5 ‰. On observe un décalage de l'ordre de 10 à 15 jours pour un même pourcentage d'infection entre les deux premiers et les deux derniers lots. Ceux-ci apparaissent donc plus résistants (tableau I et fig. 1).

TABLEAU I
Effectif cumulé de plantules malades et mortes

Durée d'incubation	Milieu de culture des plantules			
	Knop	Knop + NaCl 1 ‰	Knop + NaCl 2,5 ‰	Knop + NaCl 5 ‰
5 jours	3	0	0	0
10 jours	29	11	5	2
15 jours	40	45	21	12
20 jours	43	50	27	24
25 jours	49	50	46	46
Effectif de plantules contaminées	49	50	46	75

Ce phénomène de résistance induite par l'addition du chlorure de sodium au milieu de culture a pu être confirmé lors de plusieurs essais comparant le comportement de plantules vis-à-vis des contaminations, cultivées sur milieu Knop et sur ce même milieu enrichi de chlorure de sodium à 5 ‰ (tableaux II, III, IV et fig. 2, 3, 4).

TABLEAU II
Pourcentage d'infection de plantules de Tomate de variété Monita, contaminées par le *Fusarium*

Durée d'incubation	% cumulé de plantules malades		% cumulé de plantules mortes	
	Knop	Knop + NaCl 5 ‰	Knop	Knop + NaCl 5 ‰
5 jours	61,8 *	9,0	0	0
10 jours	90,2 *	38,2	51,4 *	0
15 jours	97,2 *	56,9	72,9 *	7,6
20 jours	99,3 *	81,2	93,7 *	47,9
25 jours	99,3	97,2	97,2	90,9
Effectif de plantules contaminées	144	144		
* = très significativement distinct du lot Knop + NaCl 5 ‰.				

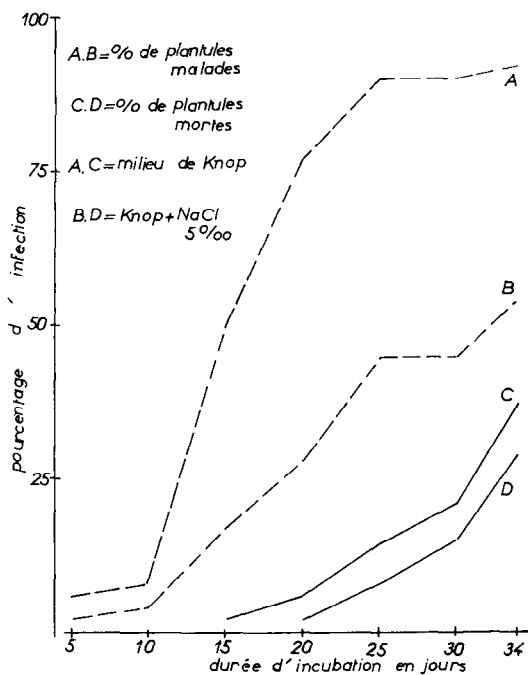
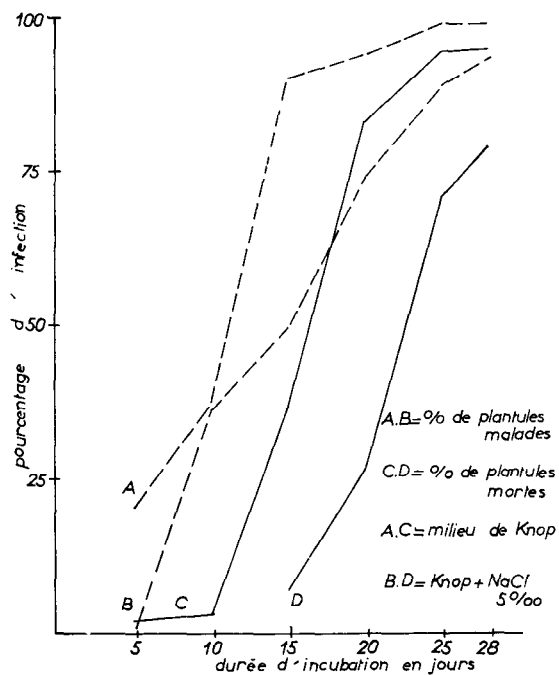
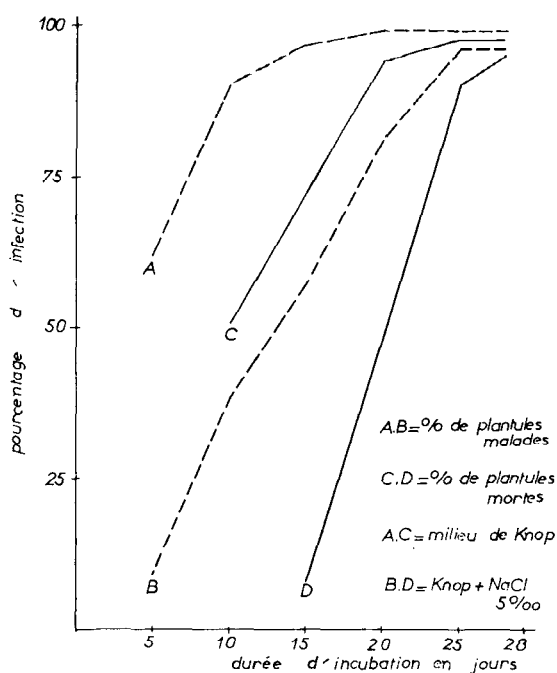
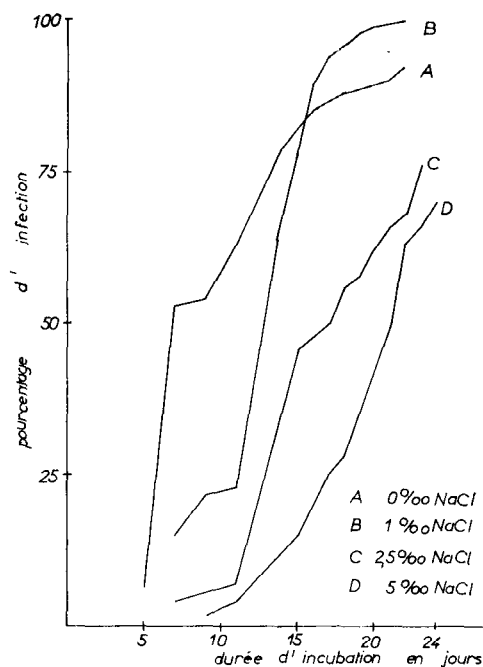


TABLEAU III

Pourcentage d'infection de plantules de Tomate de variété Canatella, contaminées par le *Fusarium*

Durée d'incubation	% cumulé de plantules malades		% cumulé de plantules mortes	
	Knop	Knop + NaCl 5 ‰	Knop	Knop + NaCl 5 ‰
5 jours	20,4	0,8	1,8	0
10 jours	37,9 *	38,3	2,7	0
15 jours	89,8 *	53,3	37,9 *	6,6
20 jours	94,4 *	74,1	83,3 *	27,5
25 jours	99,0 *	89,1	95,3 *	79,8
28 jours	99,0	93,3	95,3 *	79,1
Effectif de plantules contaminées	108	120		
* = très significativement distinct du lot Knop + NaCl 5 ‰.				

TABLEAU IV

Pourcentage d'infection de plantules de Tomate de variété Roma, contaminées par le *Fusarium*

Durée d'incubation	% cumulé de plantules malades		% cumulé de plantules mortes	
	Knop	Knop + NaCl 5 ‰	Knop	Knop + NaCl 5 ‰
5 jours	6,2	2,1	0	0
10 jours	8,3	4,1	0	0
15 jours	50 *	16,6	2,1	0
20 jours	77 *	29,1	6,2	2,1
25 jours	89,5 *	43,7	14,5	8,3
30 jours	89,5	43,7	20,8	14,6
34 jours	91,6 *	54,2	37,5	29,1
Effectif de plantules contaminées	48	48		
* = très significativement distinct du lot Knop + NaCl 5 ‰.				

La température d'incubation peu élevée (20-22 °C) de la culture de *Fusarium* utilisée dans ce dernier essai explique peut-être sa virulence plus faible.

D'autre part, les plantules cultivées sur milieu de Knop additionné de chlorure de sodium à 5 ‰ se distinguent des témoins non seulement par cette résistance accrue à l'infection, mais aussi par d'autres caractères :

En effet, la germination des graines a fait apparaître un ralentissement significatif de la vitesse de germination, de l'ordre de 7 à 8 jours. L'altération de la capacité de germination est moins importante (tableau V).

TABLEAU V

Pourcentage cumulé de germination de Tomate de variété Roma, sur milieu Knop et sur Knop + NaCl 5 ‰

	Milieu Knop		Milieu Knop + NaCl	
	%	Limites de confiance à 95 %	%	Limites de confiance à 95 %
2 ^e jour	3,2	1,3- 6,5	0	0 - 1,3
3 ^e jour	89,0	84,3-92,7	9,4	6,2-13,5
4 ^e jour	94,9	91,5-97,5	49,3	43,3-55,2
5 ^e jour	94,9	91,5-97,5	69,2	63,4-74,6
6 ^e jour	95,4	91,8-97,8	83,7	74,6-84,8
7 ^e jour	95,9	92,4-98,1	85,5	80,8-89,5
8 ^e jour	95,9	92,4-98,1	88,7	84,0-92,0
9 ^e jour	96,3	92,9-98,4	89,5	85,4-93,2
Nombre de graines semées	219		276	

D'autre part, l'intensité de transpiration des plantules est significativement inférieure et ne représente que 35 à 50 % de celle des témoins (tableau VI).

TABLEAU VI

Moyenne des pertes de poids par tube et par jour exprimée en mg (pour 10 tubes)

	1 ^{er} jour		2 ^e jour	
	Knop	Knop + NaCl	Knop	Knop + NaCl
Tube + plantule	41,7 ± 3,1	34,0 ± 2,5	53,2 ± 4,1	36,9 ± 2,3
Tube sans plantule	26,8 ± 2,5	28,8 ± 2,1	25,1 ± 1,0	25,3 ± 0,5

Enfin, si toutefois la croissance globale mesurée par le poids frais et le poids sec de plantules sacrifiées 24 jours après le semis ne montre pas de différence pour les deux conditions de culture (tableau VII), en revanche, l'élongation des tiges (premier entrenœud) est significativement inférieure lorsque le milieu de culture comporte du chlorure de sodium à la concentration de 5‰ (tableau VIII), ce qui confère aux plantules un aspect trapu caractéristique.

TABLEAU VII

Moyenne du poids frais et du poids sec, exprimé en mg, pour deux lots de 10 plantules de Tomate Roma après 24 jours de culture sur milieu Knop et Knop + NaCl à 5 ‰

Poids frais		Poids sec	
Knop	Knop + NaCl	Knop	Knop + NaCl
301 ± 24,7	296 ± 35,2	10,23 ± 1,63	9,76 ± 1,91

TABLEAU VIII

Répartition des plantules en classes d'après la longueur de la tige

Longueur de la tige (en cm)	Milieu de culture	
	Knop	Knop + NaCl 5‰
3	0	12
4	0	104
5	4	436
6	39	251
7	156	18
8	136	2
9	25	0
Nombre total de plantules mesurées	360	823
Longueur moyenne en cm	7,38 *	5,20
* = la différence est significative.		

DISCUSSION

Puisque la technique d'infection artificielle, ici adoptée, consiste à contaminer des plantules cultivées stérilement, elle dispense de pratiquer les réisolements, indispensables pour toute autre technique analogue. Le parfait état sanitaire des plantules témoins, non contaminées, implique la responsabilité du *Fusarium oxysporum* pour les symptômes obtenus.

Pour les fusarioses, plusieurs cas analogues ont été relatés concernant l'induction d'une certaine résistance à l'infection : les uns font intervenir des oligoéléments, fer, manganèse, zinc en particulier (JONES et WOLTS, 1967), d'autres sont fondés sur l'influence favorable du calcium et du bore (CORDEN, 1967, EDGINGTON et WALKER, 1958) et justifient certains aspects de la lutte agronomique par chaulage et marnage et, enfin, certains cas de résistance sont imputés à l'action des phytohormones. DAVIS et DIMOND (1953) ont montré que l'augmentation de la concentration des régulateurs de croissance empêchait la croissance du *Fusarium*. L'action de ces facteurs de croissance se joue, en particulier, au niveau des membranes cellulaires par inhibition de la pectine méthyl-estérase, favorisant la déméthylation des composés pectiques solubles et la formation de ponts Ca^{++} renforçant leur rigidité (EDGINGTON, CORDEN et DIMOND, 1961).

L'action du chlorure de sodium pourrait se rapporter directement au *Fusarium* lui-même. DAVET (1967) a montré que la croissance du champignon n'était pas altérée par de faibles concentrations de ce sel. Selon des essais en cours, cependant, le taux d'acide fusarique élaboré serait diminué pour des cultures de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* sur milieu additionné de chlorure de sodium.

Enfin, parmi les réactions observées, la diminution de la transpiration, déjà signalée par YANKOVITCH (1951), ne peut délibérément être écartée pour expliquer le retard dans la manifestation des symptômes d'infection. Le déséquilibre du bilan des échanges d'eau est en effet une hypothèse généralement admise pour expliquer le flétrissement des plantes atteintes dans leur xylème (PAGE, 1959 ; BECKMAN, 1962 ; DIMOND et EDGINGTON, 1960). Pour des plants de Tomate infectés, DIMOND et WAGGONNER (1953) ont trouvé que la vitesse de circulation de la sève était réduite de 96 à 98 %, mais toutefois la transpiration de feuilles turgescentes n'était inférieure que d'un tiers par rapport à celle de feuilles prélevées sur des plantes saines. La régulation stomatique s'avère donc impuissante à maintenir l'équilibre hydrique.

Manuscrit déposé le 19 mai 1969.

BIBLIOGRAPHIE

- BECKMAN (C. H.), BRUN (W. A.), BUDDENHAGEN (I. W.) — 1962 — Water relations in banana-plants infected with *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 52, 1144-1149.
- COME (D.) — 1968 — Problèmes de terminologie posés par la germination et ses obstacles. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, 14, 1, 3-11.
- CORDEN (M. E.) — 1965 — Influence of calcium nutrition on *Fusarium* wilt of Tomato and polygalacturonase activity. *Phytopathology*, 55, 222-224.
- CORDEN (M. E.), DIMOND (A. E.) — 1959 — A calcium requirement for growth regulator induced resistance to *Fusarium* wilt of Tomato. *Phytopathology*, 49, 68-72.

- DAVET (P.), MESSIAEN (C. M.), RIEUF (R.) — 1966 — Influence de la nutrition minérale sur la sensibilité aux maladies vasculaires chez la Tomate. *Phytopathologia mediterranea*, 5, 152-153.
- DAVET (P.) — 1967 — Les maladies des solanées maraîchères en Tunisie. *Ann. INRAT*, 40, 3, 24-27.
- DAVIS (D.), DIMOND (A. E.) — 1953 — Inducting disease resistance with plant growth regulators. *Phytopathology*, 43, 137-140.
- DIMOND (A. E.), EDGINGTON (L. W.) — 1960 — Mechanics of water transport in healthy and *Fusarium* wilted Tomato plants. *Phytopathology*, 50, 634.
- DIMOND (A. E.), WAGGONER (P. E.) — 1953 — The cause of epinastic symptoms in *Fusarium* wilt of Tomatoes. *Phytopathology*, 43, 663-669.
- EDGINGTON (L. W.), CORDEN (M. E.), DIMOND (A. E.) — 1961 — The role of pectic substances in chemically induced resistance to *Fusarium* wilt of Tomato. *Phytopathology*, 51, 179-182.
- EDGINGTON (L. W.), WALKER (J. C.) — 1958 — Influence of calcium and boron nutrition on development of *Fusarium* wilt of Tomato. *Phytopathology*, 48, 324-326.
- GÄUMANN (E.) — 1957 — Fusaric acid as a wilt toxin. *Phytopathology*, 47, 342-357.
- JONES (J. P.), WOLTZ (S. S.) — 1967 — *Fusarium* wilt (race 2) of Tomato : effect of lime and micronutrient soil amendments on disease development. *Plant. Dis. Rep.*, 51, 8, 645-648.
- KUO (M. S.), SCHEFFER (R. P.) — 1964 — Evaluation of fusaric acid as a factor in development of *Fusarium* wilt. *Phytopathology*, 54, 1041-1044.
- PAGE (O. T.) — 1959 — Observations on the water economy of *Fusarium* infected banana plants. *Phytopathology*, 49, 61-65.
- VAN HOORN (J. W.), OLLAT (Ch.), COMBREMONT (R.), NOVIKOFF (G.) — 1968 — Irrigation with salty water in Tunisia. In saline irrigation for agriculture and forestry. Dr. W. Junk N.V., The Hague, 1968, 168-186.
- YANKOVITCH (L.) — 1951 — Résistance aux chlorures des plantes cultivées. *Ann. SBAT*, 24, 33-64.